

VŠB – Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Katedra telekomunikační techniky

Měření absorbance a fluorescence vzorků v závislosti na
teplotě

Absorbance and fluorescence measurement of samples
depending on the temperature

Prohlášení

Souhlasím se zveřejněním této bakalářské práce dle požadavku čl. 26 odst. 9 Studijního a zkušebního řádu pro studium bakalářských programů VŠB-TU Ostrava.

V Ostravě 2. května 2011

.....

podpis autora

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně. Uvedl jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpal.

V Ostravě 2. května 2011

.....

podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce Ing. Petru Šiškoví Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Ostravě 2. května 2011

.....

podpis autora

Abstrakt:

Tato práce je zaměřena na měření absorpance a fluorescence kapalných látek při působení změn teploty. Bakalářská práce v úvodní části pojednává o základních principech přenosu světla po optických vláknech, zdrojích světla a spektrometrii. Také jsou zde popsány luminiscenční jevy a absorpance materiálu, které přímo souvisí s provedenými měřeními. Hlavní naplní práce je samotné experimentální měření fluorescence a absorpance kapalných vzorků. Vytvoření a popis měřicí soustavy, realizace měření a jeho vyhodnocení. V rámci zadání byly rovněž vytvořeny podklady pro laboratorní úlohy, které budou sloužit jako laboratorní úlohy v předmětu NAOV.

Klíčová slova: Luminiscence, fluorescence, absorpance, optické vláknové senzory, CCD snímač

Abstract:

The seminar paper is focused to the temperature measuring and liquid fluorescence within a temperature changes. The work introduction deals about basic principles of light transmission by optical fibres, light sources and spectroscopy. The luminescent effects and material absorbance are described here, too, which are directly connected with the given measurements. The main basic of the work is separately measuring of fluorescence and liquid absorbance. Schema creation and description, measurements acting and evaluation. In the frames of submission were created data for laboratory tasks, which will serve as the laboratory tasks of NAOV subject.

Keywords: Luminiscence, fluorescence, absorbance, optical fiber sensors, CCD sensor.

OBSAH

Úvod.....	7
1 Základní informace	8
1.1 Přehled vlnových oken:	9
2 Optický přenos:	11
2.1 Světelné zdroje:.....	11
2.1.1 Led dioda	11
2.1.2 LASER (<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>)	12
3 Přenosové vlastnosti optických vláken.....	13
3.1 Princip Funkce	13
3.2 Útlum optických vláken	13
3.2.1 Ztráty absorpcí	13
3.2.2 Ztráty vyzařováním	14
3.2.3 Ztráty rozptylem.....	14
3.2.4 Disperze	14
3.3 Numerická Apertura:.....	15
4 Senzorika	16
4.1 Intenzitně-modulovaný senzor.....	16
4.1.1 Odražový koncept	17
4.2 Fázově-modulovaný senzor	17
4.3 CCD detektor (nábojově vázané prvky)	17
5 Luminiscence	19
5.1 Fluorescence	19
5.2 Fosforescence	20
5.2.1 Další druhy luminiscence:	20
5.3 Absorbance	21
6 Měření Absorbance	22
6.1 Popis měřicí soustavy:.....	22
6.2 Měření absorbance při 580 nm	23
6.3 Měření absorbance při 470nm	27

6.4	Měření absorbance 470 nm.....	31
7	Měření fluorescence:	34
7.1	Schéma zapojení	34

Úvod

První pokusy s použitím principů, na kterých je založeno optické vlákno provedl již John Tyndall kolem roku 1850, když předváděl vedení slunečního světla trubicí s vodou prostrčenou skrz střechní domu. Nicméně skutečná optická vlákna začala vznikat až zhruba o sto let později.

První pokusy se skutečným optickým vláknem realizoval fyzik Narinder Singh Kapany v roce 1952. Vlákná blízká jejich dnešní podobě se skleněným jádrem a pláštěm ovšem vznikla ještě o pár let později. Vyvinuli je Basil Hirschowitz, C. Wilbur Peters, a Lawrence E. Curtiss na Michiganské Univerzitě v roce 1956, když pomocí nich sestavili první gastroendoskop. Brzy potom již následovala celá řada dalších aplikací přenosu obrazu optickými vlákny.

V roce 1965 dokázali pracovníci britské firmy Standard Telephones and Cables, že útlum v do té doby používaných vláknech je zapříčiněn nečistotami, které je možné částečně odstranit. Tvrdili, že vlákno bude možné využít v telekomunikacích, pokud se podaří jeho útlum snížit na 20 dB na km. Toho se poprvé podařilo dosáhnout v roce 1970 americké firmě Corning Inc., když demonstrovali vlákno s útlumem 17 dB/km., které vzniklo dopováním křemenného skla titanem. O několik let později vyrobili vlákno s útlumem 4 dB/km jehož jádro už bylo dopováno germánem, jako je tomu u většiny dnešních vláken. To byl zlomový okamžik, který umožnil obrovský rozvoj optických vláken v telekomunikační technice.

Dnešní optická vlákna dosahují s těmito historickými neporovnatelných parametrů. Jejich útlum se běžně pohybuje běžně i pod 0,2 dB/km, mají téměř nulovou disperzi a dokáží běžně překlenovat vzdálenosti do 200 km, ve speciálních případech ovšem i daleko větší.

[1]

1 Základní informace

„Při optickém přenosu informace je nosičem informace záření. Změny jeho amplitudy, kmitočtu, fáze, polarizace, trvání se mohou zobrazovat každá samostatně nebo ve vhodné kombinovat s přenášenou informací. Oblast optického záření sahá od 100nm do 1mm a dělí se na 7 podoblastí. Tři podoblasti spadají do oblasti ultrafialové, jedna podoblast spadá pod oblast světelnou a poslední tři spadají pod oblast infračervenou.

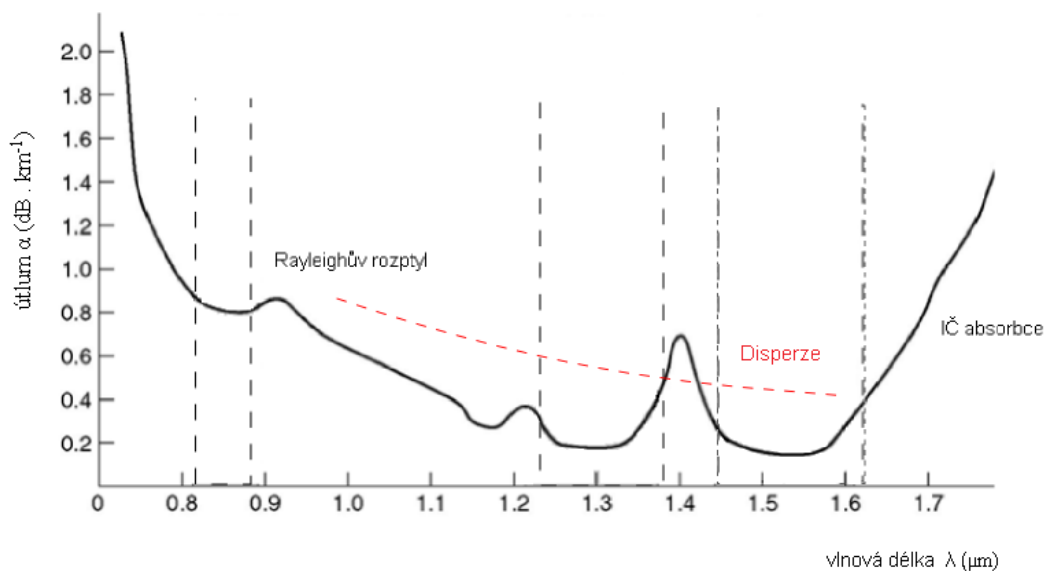
Oblast ultrafialová (100-280nm; 280 – 315; 315nm – 380nm)

Oblast světelná (380 nm- 780nm)

Oblast infračervená (780 nm – 1,4 μm ; 1,4 μm -3 μm ; 3 μm - 1mm)

Pro přenos informace v optice se využívají zejména vlnové délky okolo 850 nm, 1310 nm a 1550 nm dle obrázku 1.0. Především oblasti okolo 1310 nm a 1550 nm vykazují, menší Rayleighovým rozptylem, minimální materiálové a absorpční ztráty.

[1]



Obr. 1.0: Vlnové délky využívané pro přenos po optickém vlákně [1]

1.1 Přehled vlnových oken:

I. okno (850 nm) spadá do mnohovidového šíření. Útlumová charakteristika je zde silně klesající a dosahované hodnoty měřeného útlumu jsou pro využití zejména v dálkových přenosech příliš vysoké. Díky velmi levným zdrojům záření se přenos používá u optických přístupových sítí.

II. okno (1280 nm až 1335nm) je nejnižším a historicky prvním oknem plně využitelným pro jednotlivý přenos na vlákne s průměry 9/125 μm . Typicky dosahovaná hodnota měřeného útlumu těsně pod 0,35 dB. km^{-1} . Toto okno je využíváno pro dálkové přenosy.

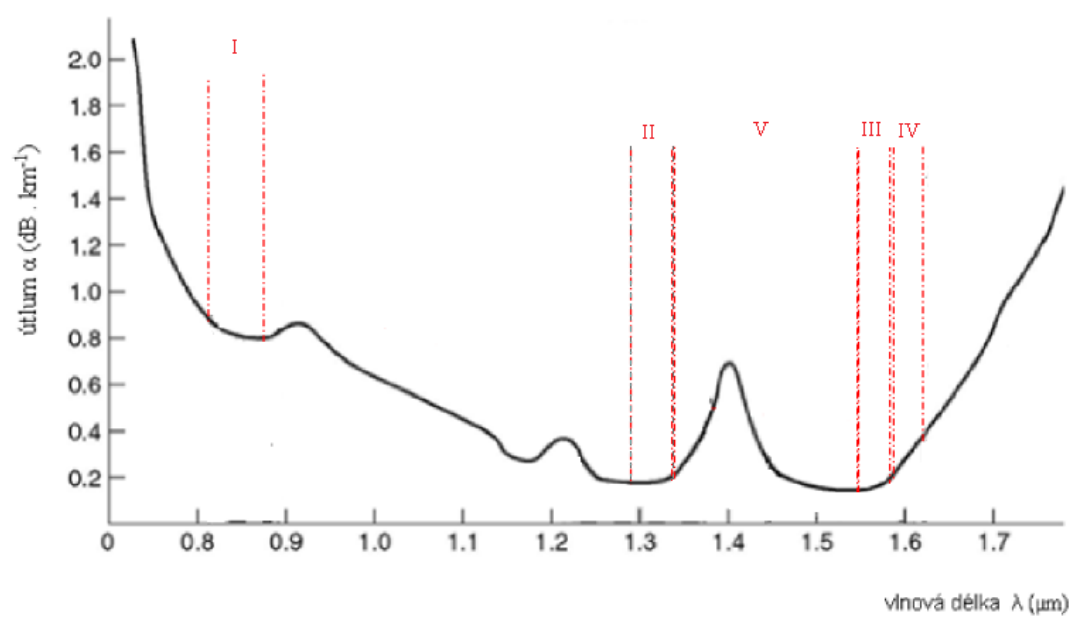
III. okno (1530nm – 1565nm) je oknem, ve kterém se u křemenného vlákna nachází minimum měřeného útlumu, typicky v hodnotách 0,19 až 0,22 dB. km^{-1} . Toto okno je využíváno pro dálkové přenosy (transportní a globální sítě)

IV. okno (1565nm až 1625nm) se nachází již za absolutním minimem měřeného útlumu, které je však natolik ploché, že se útlumové parametry od 3. okna liší jen minimálně. Právě pokrok v technice WDM a optických zesilovačů dovoluje při dálkovém přenosu spojeného spektra 3. a 4. okna téměř zdvojnásobit přenosovou kapacitu.

V. okno (1335nm až 1530nm) je pro přenosové využití dostupné teprve od konce 90. let, kdy byly zvládnuty techniky výroby optického vlákna, eliminují příměsi OH natolik, že se ztrácí lokální maximum útlumu na 1380 nm. Spojená 2. až 5. okna pak vytvářejí souvislý přenosový kanál o šířce pásma až 50 THZ.

Současný trend v přenosu po optickém vlákne je charakterizován k přesunu do 2.,3.,4. a 5. okna, při použití jednovidových optických vláken. Diagram nenosových oken je zobrazen na obrázku 1.1.

[1]



Obr. 1.1 Přehled přenosových oken [1]

2 Optický přenos:

Přenos informace optickým vláknem za pomoci optického záření. Specifické vlastnosti světelného signálu, že přenos je uskutečněn neutrálními fotony, které se vzájemně neovlivňují. To je velkou výhodou oproti metalickému vedení, kde je přenos uskutečněn elektricky nabitými elektrony. Ty způsobují elektrická a magnetická pole, která jsou příčinou různých parazitních vazeb. Nic takového v optických vláknech nepůsobí a proto je optický přenos odolný proti rušení a mnohem odolnější vůči odposlechu. Optické spojení je dokonale jednosměrné, jelikož nedochází ke zpětnému ovlivňování z výstupu na vstup.

Základní schéma optického přenosu je tvořeno modulovaným zdrojem záření, optickým prostředím a přijímacím zařízením. Vstupní a výstupní signál optického přenosu je elektrický a tak vysílací i přijímací část obsahuje kromě optoelektronické soustavy také soustavu elektronickou pro zpracování vstupního a výstupního elektrického signálu.

Jako zdroj optického signálu se používá LASER nebo luminiscenční dioda. Úkolem vysílací a přijímací části je převést optický signál s co nejmenšími ztrátami přes optické prostředí na přijímací stranu do fotodetektoru. Přijímací strana převede zpět signál optický na signál elektrický. Nejvhodnější prostředí pro přenos optického signálu je optické vlákno. Základním materiálem pro jeho výrobu je SiO_2 a tzv. legovací dopanty. Koncentraci těchto dopantu se dosahuje požadovaných vlastností z hlediska průběhu a velikosti indexu lomu jádra a pláště vlákna čímž jsou ovlivněny jeho přenosové vlastnosti. Přenosové vlastnosti závisí na druhu konstrukce optického vlákna. Jsou dva základní typy optických vláken: jednovidové vlákno SM(jednovidová vlákna) a MM(multimodová vlákna).

[1]

2.1 Světelné zdroje:

2.1.1 Led dioda

je to polovodičová součástka, která když je zapojena v propustném směru tak vyzařuje světlo o určité vlnové délce. Základem této součástky je P-N přechod. Vlnová délka světla jenž LED dioda vyzařuje, záleží na použitém chemickém složení při výrobě LED diody. LED diody vyzařující kratší vlnové délky mají větší spotřebu elektrické energie. Monokrystaly diod jsou překryty kulovými vrchlíky z polyesteru, epoxidové pryskyřice kvůli materiálům, z nichž se

LED diody vyrábějí, protože tyto materiály mají vysoký index lomu a velká část vyzařovaného světla by se odrážela totálním odrazem zpět od rozhraní se vzduchem.

Používá se jako světelný zdroj MMSI a MMGI vlákna. Jejich velkou výhodou je nízká pořizovací cena, ale postrádají přesnost záření a proto u některých systémů je nelze použít, protože vyžadují přesnost v jednotkách nanometrů.

[5]

2.1.2 LASER (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*)

Je zařízení určeno k vydávání specifického druhu světla a to monochromatického a koherentního a přitom má malou divergenci. Koherentní světlo je takové, které má jedinou fázi i frekvenci. Využití v optice: Laser se používá jako pokročilejší zdroj světla než LED dioda právě kvůli malé divergenci světla. Protože se používají především u SMSI vláken kde se vyzařují ve vlnových délkách 1310 nm a 1550 nm. Jejich nevýhodou je vyšší cena, zvláště když vyžadujeme velmi vysokou přesnost, například u WDM multiplexu.

[3]

3 Přenosové vlastnosti optických vláken.

3.1 Princip Funkce

Princip fungování optických vláken je založen na jednoduchém fyzikálním jevu nazývaném totální reflexe. Ten říká, že pokud světlo prochází z opticky hustšího prostředí do opticky řidšího prostředí a pokud se rozhraní mezi těmito dvěma prostředími dosáhne pod menším úhlem než kritickým, pak se veškerá světelná energie odrazí zpět do opticky hustšího prostředí. Velikost kritického úhlu závisí na poměru indexu lomu obou prostředí. Optické vlákno se skládá ze dvou hlavních částí, z pláště a jádra, jenž je opticky hustší a má tedy vyšší index lomu.[1]

$$N_1 > N_2$$

3.2 Útlum optických vláken

rostoucí vzdáleností se energetická hodnota ve vlákne snižuje a při překročení určitého útlumu způsobí nečitelnost signálu. Je způsoben těmito vlivy:

- absorpcí prostředí, z něhož je vlákno vyrobeno.
- vyvázáním optického výkonu z vlákna.
- rozptylem na nehomogenitách.

[1]

3.2.1 Ztráty absorpcí

v ultrafialové a viditelné oblasti jsou způsobeny přechody mezi atomárními a v infračervené oblasti mezi molekulárními úrovněmi základního materiálu, příměsí a nečistot, z nichž mají největší vliv ionty kovů Fe, Cu, Cr jejichž rezonance na určitých materiálech je provázána tepelnými ztrátami. Rezonanční kmitočet iontů OH, které tvoří hlavní podíl ztrát, odpovídá vlnové délce 2,8 μm , takže leží mimo pásmo využívané pro přenos na optických kmitočtech,

avšak druhá harmonická 1,38 μm a třetí spadají do oblasti využívaného pásma. Pro výrobu vláken o nízkém měrném útlumu je zapotřebí zajistit nízkou koncentraci iontů OH a iontů kovů.

[1]

3.2.2 Ztráty vyzařováním

jsou způsobeny lomem šířících se paprsků na rozhraní dvou dielektrických prostředí s různými vlastnostmi, při němž část energie proniká z jádra ven.

[1]

3.2.3 Ztráty rozptylem

jsou způsobeny tím, že molekuly v amorfním materiálu náhodně rozložené tvoří vlastně mikronehomogenity indexu lomu materiálu. Jsou-li tyto nehomogenity a drobné nečistoty rozměrově malé oproti vlnové délce, pak rozptylovým ztrátám na nich vznikajícím říkáme Rayleighovy. Tyto ztráty jsou nepřímo úměrné čtvrté mocnině vlnové délky šířícího se záření a rostou velmi rychle směrem k UV oblasti. Charakteristickou Rayleighova rozptylu je jeho všesměrovost.

K uvedeným vyjmenovaným ztrátám se z praktického pohledu dále řadí ztráty způsobené porušením dokonalé geometrie, porušením tvarů a rozměrů hranice mezi jádrem a pláštěm. Svoji roli sehrávají i trhlinky v materiálu jádra. V neposlední řadě tzv. mikroohyby, pod které zahrnujeme poruchy přímočarosti osy vlákna.

[1]

3.2.4 Disperze

je jedna z hlavních veličin, která nám nepříznivě ovlivňuje vlastnosti optických vláken. Máme několik druhů disperzí. Materiálová disperze, chromatická disperze, vidová disperze a polarizačně vidová disperze.

[1]

3.3 Numerická Apertura:

Tato veličina udává schopnost optického vlákna navázat do svého jádra světlo.

$$NA = n \cdot \sin\Phi_a$$

(n =index lomu materiálu z něhož je optické vlákno vyrobeno, $\sin\Phi_a$ maximální úhel, pod jakým můžeme navázat světlo do vlákna.)

4 Senzorika

Senzor je zařízení, které zjišťuje druh fyzikálního signálu nebo chemické sloučeniny. Snímač převádí fyzikální veličinu na jinou veličinu. Obecná definice snímače zní: snímač převádí informaci z fyzikální oblasti měření veličiny do jiné fyzikální oblasti, např.: na unifikovaný signál, nejčastěji na signál elektrický. Vláknově optické senzory mohou být rozděleny do dvou základních skupin: fázově-modulované senzory a intenzitně-modulované senzory. Intenzitně modulované senzory jsou obvykle spojovány s nějakou fyzickou odchylkou, která působí na optické vlákno. Výchylka způsobí změnu intenzity přijímaného světla a to je vlastně funkční jev měření. Fázově modulované senzory porovnávají fázi světla v měřeném vláknu vůči interferometru, což je referenční vlákno uvnitř zařízení. Fázová odlišnost může být měřená s extrémní přesností. Fázově-modulované senzory jsou mnohem přesnější než intenzitně-modulované senzory a mohou být použity v mnohem větším rozsahu, ale jejich cena je podstatně vyšší. Mnoho součástí interferometrů je používáno ve vojenské technice, kde cena není hlavním kritériem. Na druhou stranu intenzitně-modulované spektrometry jsou vhodné pro průmyslové využití. Vláknově optické senzory využívají převážně MM vlákna, kvůli větší velikosti jádra.

[2]

4.1 Intenzitně-modulovaný senzor

senzor detekuje množství světla. Ztráty světla mohou být spojovány s přenosem, odrazem, mikroohybem nebo dalšími jevy, jako jsou absorpce, nebo fluorescence. Tyto senzory vyžadují pro práci více světla. Používají multimodová vlákna. Přenosové, reflektivní a mikroohybové senzory jsou navrženy pro velmi širokou škálu využití. V podstatě jsou to snímače posunutí. Příklad toho jak mohou být optická vlákna použita k detekci změny polohy (posunutí) související s pohybem a jinou fyzickou vlastností. Například pohyb bimetalického elementu pro měření teploty.

[2]

4.1.1 Odrazový koncept

Reflexní, odrazový senzorický přístup je vhodný pro široké spektrum použití díky jejich přesnosti, jednoduchosti a potenciálně nízké ceně. Při této metodě se senzor skládá ze dvou vláken. Jedno vlákno přenáší světlo ke vzorku a druhé vlákno zachytává vyzářené světlo ze vzorku. Intenzita zachyceného světla je závislá na vzdálenosti mezi sondou a odrazovým místem. Další aspekt, který nám ovlivňuje měření je konfigurace sondy.

[2]

4.2 Fázově-modulovaný senzor

využívá interferometrické techniky tlaku, rotace a magnetického pole. Jsou konstruovány tak, že pokud je světlo v měřicím a referenčním vlákne v přesné fázi, tak zesílí světelnou intenzitu. Pokud jsou mimo tuto fázi, vyskytnou se rušivé interference a přijímaná světelná intenzita je nižší. Jestli je měřicí vlákno pod vlivem rušivého prostředí musí se délka, nebo refrakční index, nebo oboje změnit.

[2]

Další druhy optických snímačů: Akustické, Chemické, Vztlakové, Tlakové, Teplotní, Úrovňové, Průtokové senzory.

Pro mou práci jsem využil druh optického snímače CCD detektor.

4.3 CCD detektor (nábojově vázané prvky)

Charge Coupled Device

CCD detektory vznikaly jako experimentální počítačové paměti, ale osvědčily se jako detektory světla, protože velmi dobře převádí světelnou energii na elektrický signál. Někteří výrobci spektrometru tento typ polovodičového detektoru zvolili jako svoji primární detekční technologii.

Princip funkce CCD detektoru:

Světlo, které je navázáno z optického vlákna vstupuje do spektrometru vstupní štěrbinou zrcadla, které vytváří rovnoběžný svazek světla. Takovéto světlo dopadá na difrakční mřížku, která jej rozkládá na jednotlivé spektrální složky – vlnové délky. Jednotlivé spektrální složky dopadají na další sférické zrcadlo, které je zaostřuje a směřuje na lineární CCD detektor. Výsledný signál je převeden do digitální podoby a na počítači je zobrazen výsledný spektrální průběh. Je třeba si uvědomit, že pro tento typ aplikací není spektrometr kalibrován a absolutní měřený průběh je tak do jisté míry zkreslen. Zkreslení je dáno spektrálními charakteristikami prvků, které jsou součástí optické cesty od zdroje až po detektor. Jsou to především optické propojovací kabely, kolimační optika držáku kyvet – čočky, difrakční mřížka a CCD detektor záření.

5 Luminiscence

je jev, kdy objekt vyzařuje elektromagnetické záření po předchozím dodání energie, přičemž toto záření vzniká jako přebytek nad rovnovážným zářením tepelným. To znamená, že o luminiscenci můžeme mluvit v případě, kdy světelné záření vysílané objektem není výhradně spojeno s jeho teplotou – tj. rozžhavíme-li železnou tyč „do ruda“ nejde o luminiscenci, neboť v tomto případě je „rudé světlo“ spojeno s teplotou tyče.

Energie, kterou dodáme luminiscenčním látkám způsobí, že přechod obvykle valenčních elektronů do vyšších elektronových stavů, a proto dochází k excitaci molekuly. Pokud po odstranění zdroje ozařování látky luminiscence vymizí, hovoříme o fluorescenci.

Na základě způsobu excitace elektronů je možno definovat řadu druhů luminiscence:

Nejrozšířenější druhem Luminiscence je fotoluminiscence: fluorescence fosforescence. U obou těchto jevů dochází k vyzařování světla objektem, co mu byla dodána světelná energie zpravidla o kratší vlnové délce, než je následná vyzařovaná vlnová délka. Tuto vlastnost mají látky, které obsahují molekuly luminoforu (případně fluorofor). Zatímco u fluorescence dochází, pouze když je dodávána světelná energie, bez této energie fluorescence okamžitě vyhasíná. Na rozdíl od toho fosforescenční záření může být i po zastavení dodávané energie nějakou dobu pozorovatelná.

[5]

5.1 Fluorescence

je přechod mezi tzv. povolenými stavy atomu a tudíž jí nic nebrání ve vypouštění fotonů již za pár nanosekund.(chinin, deriváty fluoresceinu, deriváty rhodaminu).

Je to jev spočívající na to,že některé látky(fluorofory) při osvětlení světlem určité vlnové délky vyzařují světlo na jiné vlnové délce. Tento jev se hojně využívá v mikroskopii v oblasti přírodních věd a medicíny.

Hlavní měřené parametry :intenzita, spektrální složení,polarizace, doba dohasínání,koherenční vlastnosti, emisní spektrum,excitační spektrum. Na obrázku 5.0 můžeme vidět fluorescenci chininu.



Obrázek 5.0 fluorescence chininu obsaženém v toniku[5]

5.2 Fosforescence

Tento typ luminiscence se liší od fluorescence v době jejího trvání. Doba trvání může trvat až 10 minut. Tento jev je způsoben, pokud elektrony po excitaci dostávají do energetických hladin, z kterých se nemohou přímo vrátit do základní hladiny. Tyto hladiny se nazývají metastabilní. V metastabilní hladině setrvávají elektrony do té doby, než vyzáří energii v podobě fotonů, která je udržovala v této hladině.

5.2.1 Další druhy luminiscence:

Elektroluminiscence – luminiscence je vyvolána elektrickým polem (např. luminiscenční dioda, reklamní panely, nouzové osvětlení)

Katodoluminiscence – luminiscence je vyvolána dopadajícími elektrony (např. stínítko televizní obrazovky)

Chemoluminiscence – luminiscence je vyvolána chemickou reakcí (patří sem i bioluminiscence, kdy je emise světelného záření vytvořena živými organismy)

Termoluminiscence – luminiscence je vyvolána vzrůstem teploty po předchozím dodání energie

Radioluminiscence – luminiscence je vyvolána působením jaderného záření

Triboluminiscence – luminiscence je vyvolána působením tlaku

[5]

5.3 Absorbance

je veličina používaná ve fotometrii a spektrofotometrii. Udává, jak mnoho světla bylo pohlceno měřeným vzorkem. V literatuře se vyskytuje i termín *extinkce E*. Absorbance je bezrozměrná veličina.

Absorbanci lze definovat na základě transmitance jako

$$A = -\log T$$

kde

- A je absorbance,
- T je transmitance téhož vzorku za stejných podmínek.

6 Měření Absorbance

6.1 Popis měřicí soustavy:

Zdroj světla: vytváří světelný výkon za pomoci LED diod. Tento zdroj obsahuje několik LED diod každá vyzařuje světelný výkon na různé vlnové délce. Můžeme si upravit světelný výkon, který zdroj vydává pomocí potenciometru.

Optické vlákno: slouží pro přenos světelného výkonu do kyvety a z kyvety do zdroje.

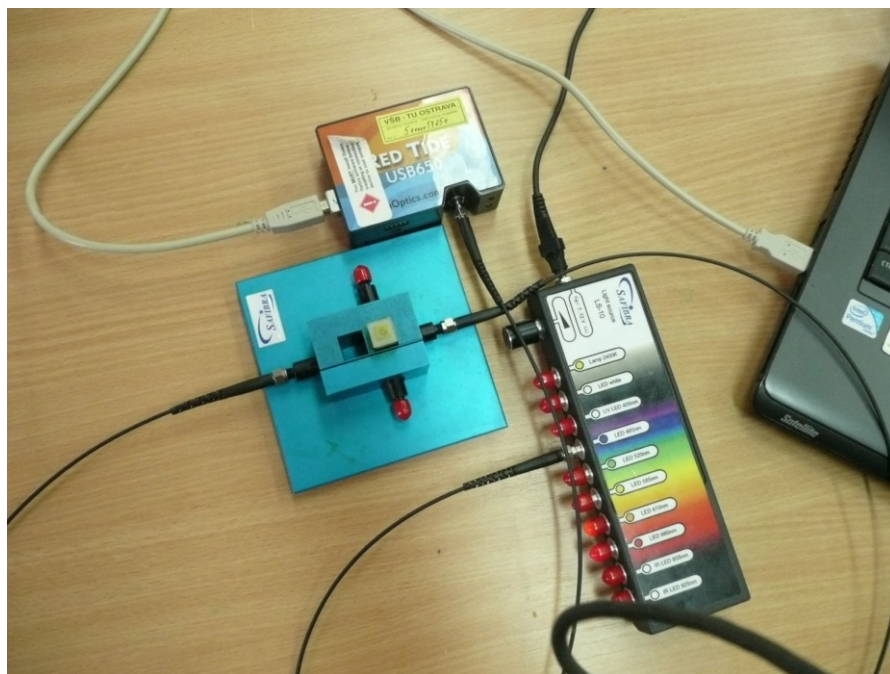
Kyveta: Slouží pro uložení měřených vzorků, kde mají vhodnou polohu pro měření absorbance látky.

Spektrometr: Zpracovává světelný výkon, jenž vychází z kyvety do spektrometru a promítá nám jeho vyhodnocení do počítače.

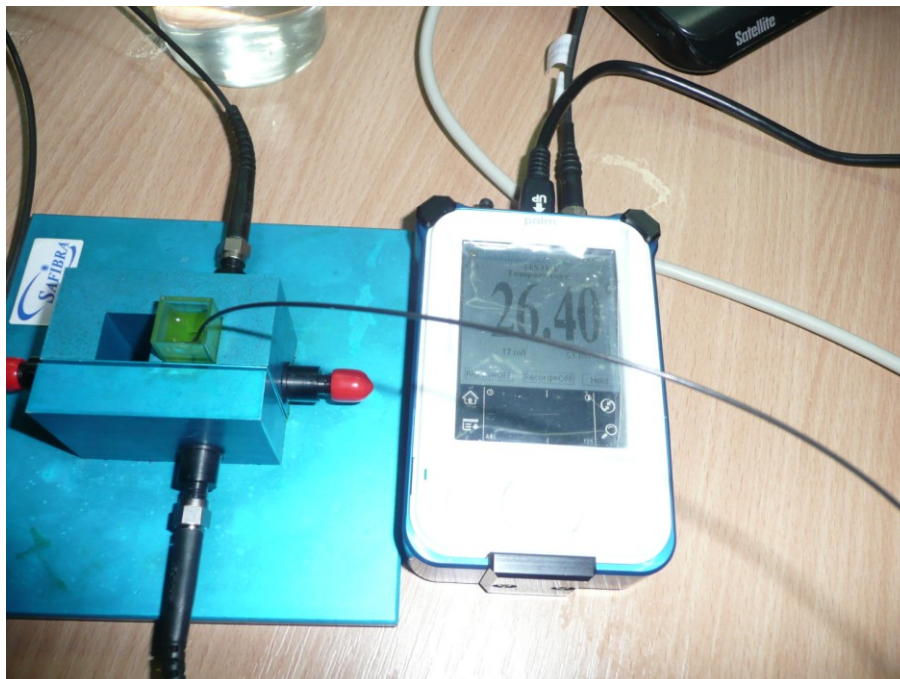
Teploměr: Za pomoci teploměru hlídáme teplotu vzorku

Varič: Slouží pro zahřátí kádinky se vzorkem.

Schéma zapojení je na obrázku 6.0, měření teploty vzorku je na obrázku 6.1.



Obrázek 6.0 Fotografie zapojení pro měření absorbance



Obrázek 6.1 Fotografie měření teploty vzorku

6.2 Měření absorbance při 580 nm

Toto měření pojednává o absorbanci světla na vlnové délce 580 nm (žlutá barva). Ze zdroje bylo vedeno světlo přes optické vlákno do kyvety, která obsahovala vzorek žluté barvy (nejlépe zjistit název). Určitá část světelné energie byla pohlcena vzorkem a vznikla nám absorbance světla. Zbývá světelná energie putovala z kyvety přes optické vlákno do spektrometru. Spektrometr je připojen k počítači kde se nám vyobrazovaly výsledky v programu Safibra. Absorbance se nám v závislosti na teplotě vzorku měnila.

,

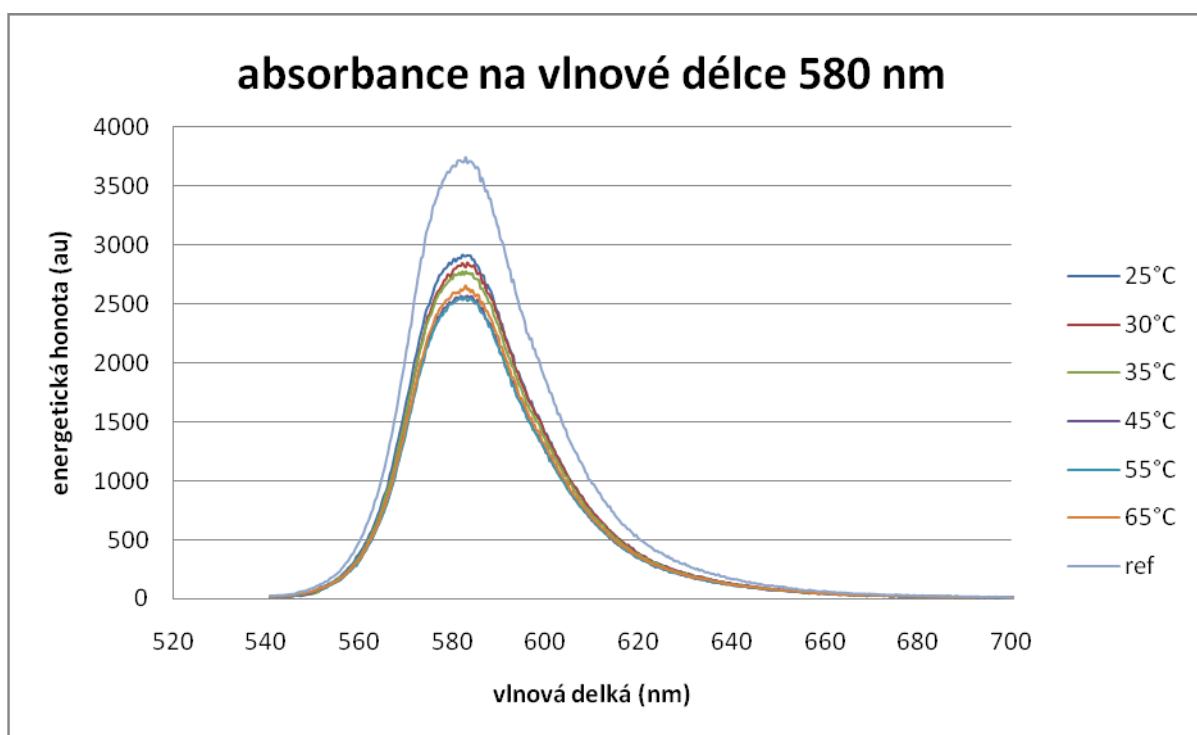
Výsledky zapsané ve formě energických hodnot (au) tabulka 6.0 :

$\lambda(\text{nm})$	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C	Ref
540,59	16,5083	16,6226	17,5686	16,052	14,3037	18,0922	26,3157
550,26	59,18	52,9467	46,8583	61,7213	67,8723	69,9677	96,5873
560,97	467,513	423,528	439,86	401,387	401,54	406,637	592,253
570,94	1858,5	1772,53	1763,17	1631,73	1603,53	1643,93	2323,93
580,16	2882,83	2796,11	2755,17	2536,73	2521,87	2594,6	3669,6
590,78	2270,17	2267,94	2176,17	2037,73	2037,53	2084,27	2992,93
600,29	1376,87	1358,19	1323,9	1234,03	1234,33	1272,4	1805,97
610,49	703,847	712,612	677,193	633,053	639,873	652,97	949,92
620,29	369,513	371,778	366,193	334,053	337,207	342,637	494,253
630,06	211,18	211,445	212,193	194,053	186,207	196,303	282,92
640,15	124,51	125,875	122,237	117,387	111,636	122,09	167,98
650,89	77,8467	73,1134	73,8583	72,0547	68,2057	75,9677	103,92
660,56	43,8467	45,6134	43,8583	42,388	43,539	45,9677	58,9203
670,54	26,8417	27,7059	28,2353	27,3853	26,637	28,4257	39,649
680,82	18,175	18,2893	18,9019	18,052	17,3037	21,4257	28,9823

Tabulka 6.0 energetické hodnoty při určitých teplotách.

..

Na grafu (obr 6.2) vidíme, že absorbance světla o vlnové délce 580 nm, které prochází žlutým vzorkem je při teplotě 25°C nejnižší. Jeho energetická hodnota při vlnové délce 580 nm činí 2882 au. Když byla zvýšena teplota vzorku na 30°C, absorbance se zvýšila o 3%. Při dalším zvýšení teploty vzorku na 35°C se absorbance zvýšila o 1,5 %. Když vzorek dosáhl teploty 45°C absorbance se zvýšila o dalších 8%. Nejvyšší absorbance dosáhl vzorek při teplotě 55°C, kde absorbance narostla o dalších 0,6%. Když vzorek dosáhl 65°C jeho absorbance se dále nezvyšovala, ale naopak poklesla o 2,8%.



Obrázek 6.2 Graf absorbance světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.

Druhé vyjádření ukazuje výsledky jako hodnoty útlumu.

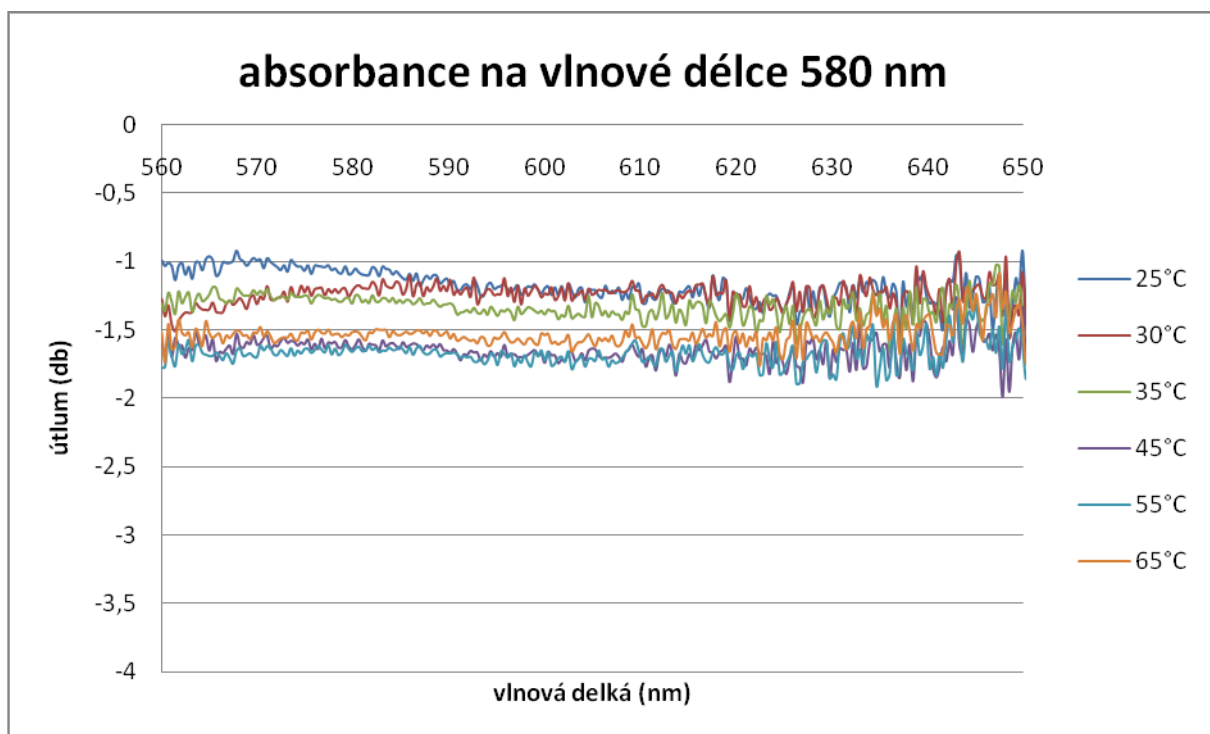
$$A = 10 \log * \frac{P_2}{P_1}$$

Výsledky zapsané ve formě útlumu (dB) tabulka 6.1:

$\lambda(\text{nm})$	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C
540,59	-2,02511	-1,99515	-1,75477	-2,14685	-2,64765	-1,62722
550,26	-1,94388	-2,78283	-3,0304	-1,80982	-1,60083	-1,40848
560,97	-1,0283	-1,39697	-1,35819	-1,68854	-1,76458	-1,73041
570,94	-0,98025	-1,25141	-1,21136	-1,59134	-1,6093	-1,47203
580,16	-1,07634	-1,16946	-1,24924	-1,56238	-1,61597	-1,51167
590,78	-1,13787	-1,23848	-1,32224	-1,63328	-1,65706	-1,52197
600,29	-1,24069	-1,1849	-1,36221	-1,67907	-1,75464	-1,58929
610,49	-1,30209	-1,24834	-1,46974	-1,76247	-1,71593	-1,62794
620,29	-1,26319	-1,23666	-1,30239	-1,70134	-1,66053	-1,59116
630,06	-1,39912	-1,35716	-1,37804	-1,84944	-1,84392	-1,54962
640,15	-1,30053	-1,25318	-1,38056	-1,55639	-1,77452	-1,38577
650,89	-1,35232	-1,43696	-1,74571	-1,65209	-1,84919	-1,73895
660,56	-1,35654	-1,36942	-1,04637	-1,62921	-1,60389	-1,27049
670,54	-1,69423	-1,5566	-1,47439	-1,60714	-1,72747	-1,44522
680,82	-1,39149	-0,98154	-1,00114	-1,58862	-1,55034	-0,76115

Tabulka 6.1 útlum absorpance v dB při určitých teplotách.

Následující graf (obr. 6.3) popisuje absorbanci ve formě útlumu. Nejnižší útlum byl při 25°C. Při zahřívání vzorku útlum mírně rostl až do teploty 55°C. Při dalším zvýšení teploty už útlum mírně poklesl.



Obrázek 6.3 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.

6.3 Měření absorbance při 470nm

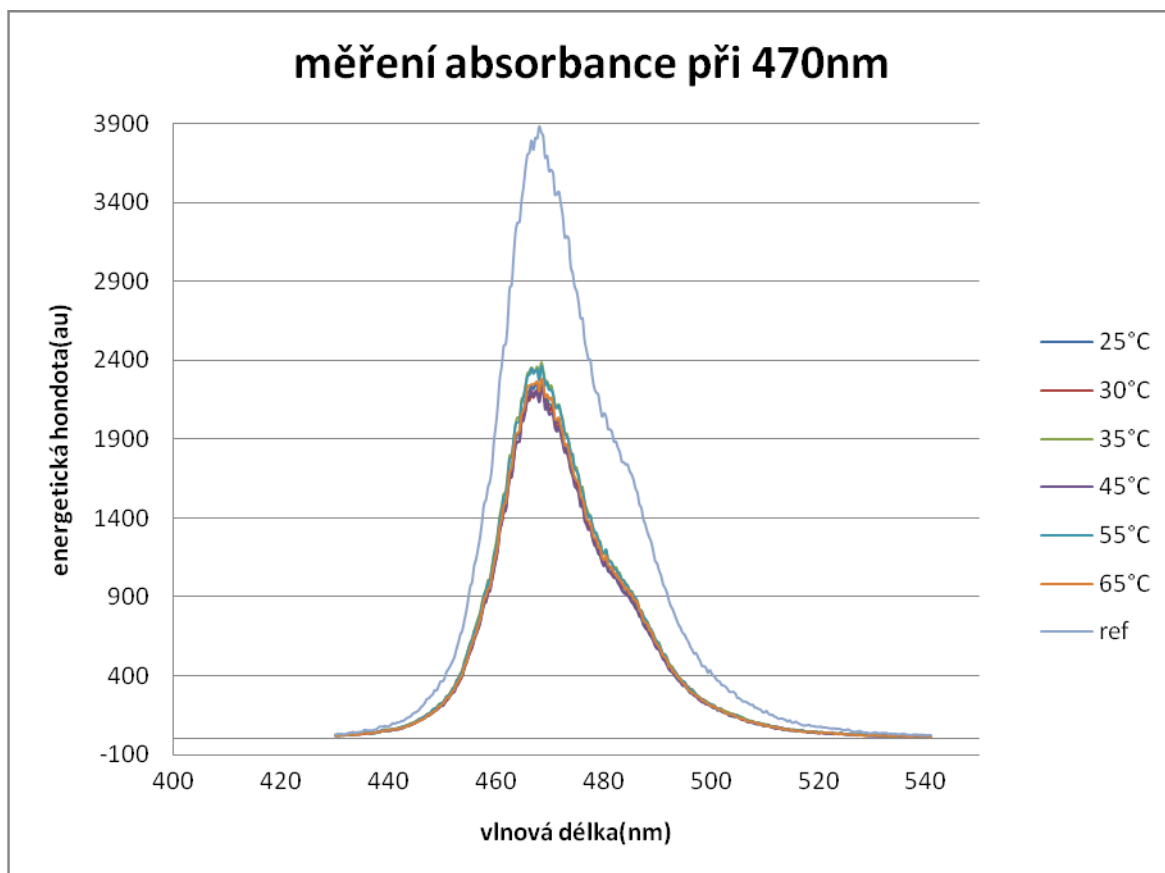
Toto měření pojednává o absorbanci světla na vlnové délce 470 nm (modrá barva). Ze zdroje bylo vedeno světlo přes optické vlákno do kyvety, která obsahovala vzorek žluté barvy (nejlépe zjistit název). Určitá část světelné energie byla pohlcena vzorkem a vznikla nám absorbance světla. Zbylá světelná energie putovala z kyvety přes optické vlákno do spektrometru. Spektrometr je připojen k počítači, kde se nám vyobrazovaly výsledky v programu Safibra. Absorbance se nám v závislosti na teplotě vzorku měnila.

Výsledky zapsané ve formě energetických hodnot (au) tabulka 6.2:

λ (nm)	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C	ref
430,2	20,693	15,43	19,54733	19,533	19,32267	18,658	24,76301
440,17	52,87067	48,001	54,70233	50,406	55,71533	53,694	77,87003
450,48	223,2033	225,0033	241,0367	223,0733	243,3833	229,6933	380,1044
460,03	1147,533	1128,333	1231,367	1141,1	1200,067	1162,367	1986,086
470,29	2117,867	2104	2244,033	2068,1	2212,733	2163,033	3611,1
480,16	1117,367	1130,433	1168,533	1096,2	1180,667	1132	2065,208
490	573,2033	589,3367	608,0367	569,4067	614,3833	597,69	1111,253
500,17	210,5367	211,67	214,0367	200,4067	214,05	207,6933	409,6044
510,32	85,53733	85,001	87,03567	81,73933	79,04867	81,36067	173,8544
520,08	39,02633	36,09667	35,214	33,19967	36,656	31,99133	72,37413
530,17	18,35967	17,76333	19,54733	16,533	19,98933	20,658	35,24913
540,59	15,87067	15,001	13,70233	13,07267	13,04867	14,36067	21,46725

Tabulka 6.2 energetické hodnoty při určitých teplotách.

Na grafu (obr 6.4) vidíme, že absorbance světla o vlnové délce 470 nm, které prochází modrým vzorkem není při teplotě 25°C nejnižší. Jeho energetická hodnota při vlnové délce 470 nm činí 2117 au. Když byla zvýšena teplota vzorku na 30°C, absorbance se zvýšila o 0,7 %. Při dalším zvýšení teploty vzorku na 35°C se absorbance zvýšila o 6,25 % a zde byla absorbance nejvyšší. Když vzorek dosáhl teploty 45°C absorbance se snížila o dalších 8,5 % a absorbance vzorku byla nejnižší. Vzorek o teplotě 55°C vykazoval nárůst absorbance o 6,54%. Když vzorek dosáhl 65°C jeho absorbance poklesla o 2,29%.



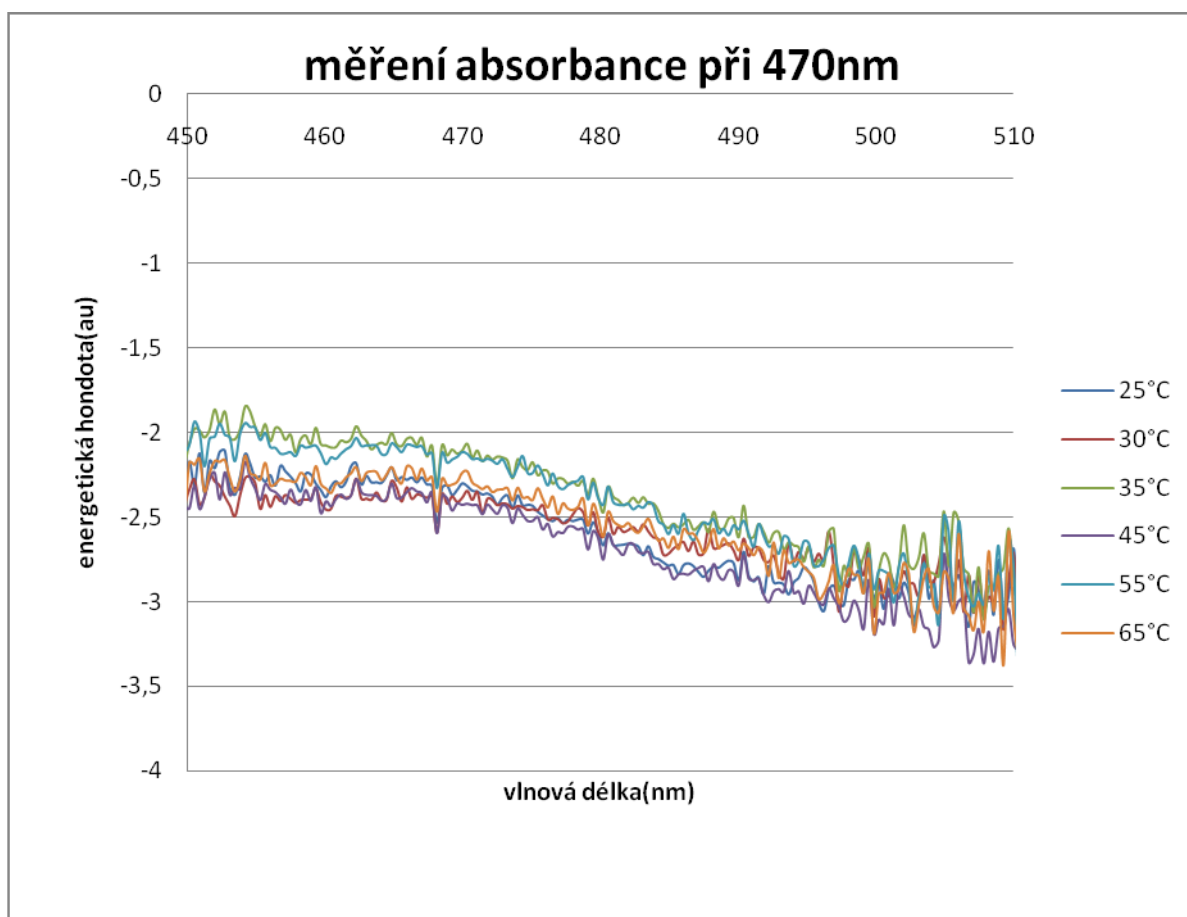
Obrázek 6.4 Graf absorpance světla při vlnové délce 470 nm procházející modrým vzorkem.

Výsledky zapsané ve formě útlumu (dB) tabulka 6.1:

λ (nm)	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C
430,2	-0,7798	-2,05438	-1,02716	-1,03035	-1,07736	-1,22938
440,17	-1,68156	-2,1012	-1,53364	-1,88888	-1,45396	-1,61445
450,48	-2,31202	-2,27714	-1,9782	-2,31455	-1,93612	-2,18755
460,03	-2,38233	-2,45561	-2,07611	-2,40674	-2,18793	-2,32655
470,29	-2,31741	-2,34594	-2,0661	-2,42068	-2,1271	-2,22576
480,16	-2,66768	-2,61719	-2,47323	-2,75074	-2,42837	-2,61117
490	-2,87504	-2,75449	-2,61883	-2,9039	-2,57373	-2,69337
500,17	-2,89037	-2,86705	-2,81876	-3,10452	-2,81849	-2,94942
510,32	-3,0803	-3,10762	-3,00489	-3,27755	-3,42291	-3,29771
520,08	-2,68226	-3,02116	-3,12868	-3,3845	-2,95438	-3,54551
530,17	-2,83284	-2,97624	-2,56061	-3,28797	-2,4635	-2,3206
540,59	-1,31181	-1,55656	-1,94982	-2,15412	-2,1621	-1,74602

Tabulka 6.3 útlum absorpance v dB při určitých teplotách.

Následující graf (obr 6.5) popisuje absorbanci ve formě útlumu. Nejnižší útlum byl při 35°C . Při zahřívání vzorku útlum mírně rostl až do teploty 45°C. Při dalším navyšování teplot útlum nerostl.



Obrázek 6.5 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 470 nm procházející modrým vzorkem.

6.4 Měření absorpance 470 nm

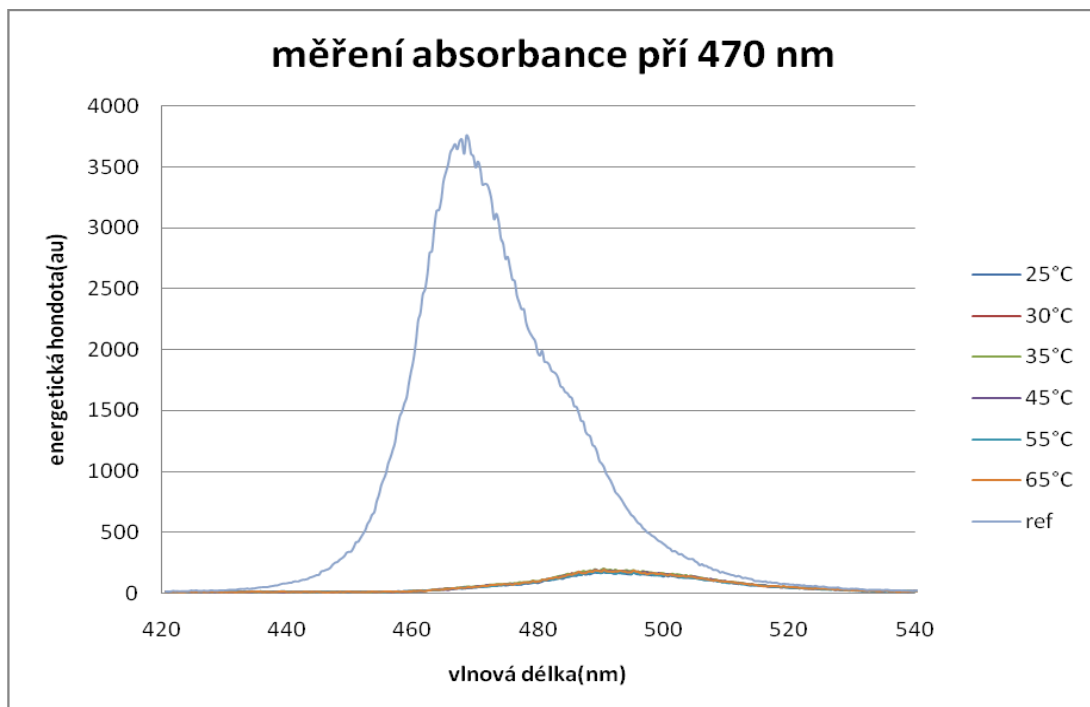
Toto měření pojednává o absorpaci světla na vlnové délce 470 nm (modrá barva). Ze zdroje bylo vedeno světlo přes optické vlákno do kyvety, která obsahovala vzorek žluté barvy (nejlépe zjistit název). Určitá část světelné energie byla pohlcena vzorkem a vznikla nám absorpance světla. Zbylá světelná energie putovala z kyvety přes optické vlákno do spektrometru. Spektrometr je připojen k počítači, kde se nám vyobrazovaly výsledky v programu Safibra. Absorpance se nám v závislosti na teplotě vzorku měnila.

Výsledky zapsané ve formě energetických hodnot(a.u) tabulky 6.4:

$\lambda(\text{nm})$	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C	ref
420,57	10,93	11,87747	9,667033	11,1337	11,95493	11,42763	13,032
430,94	8,9301	8,5442	9,333567	8,800267	11,955	10,76097	28,032
440,9	9,092133	11,03153	11,808	14,06333	12,81333	12,88933	94,859
450,85	10,93	10,8776	13,00033	8,800367	9,621667	11,0943	417,0333
460,76	23,092	19,03133	20,47467	22,06333	19,81333	20,22267	2234,5
470,66	52,59667	56,544	59,33367	55,80033	56,28833	57,09433	3481,367
480,16	90,93	99,209	98,003	93,13267	97,28833	98,42933	1950,033
490,72	168,76	180,3633	190,14	175,0633	171,8133	181,2233	981,5267
500,54	140,2667	154,8767	156,67	151,8	148,29	145,0967	374,3667
510,68	86,59667	86,544	94,00033	88,467	88,62167	91,42767	150,0333
520,08	44,93	51,21067	47,667	45,80033	44,955	50,09433	69,69867
530,17	23,93	23,21067	24,667	24,80033	20,955	24,42767	35,69867

Tabulka 6.4 energetické hodnoty při určitých teplotách.

Na grafu (obr 6.6) vidíme absorpaci světla o vlnové délce 470 nm(modrá barva), které prochází žlutým vzorkem. Žlutý vzorek téměř veškeré světlo na vlnové 470 nm absorboval. Propustil jen malou část světla posunutou na vlnovou délku 490 nm. Je to způsobeno rozdílností barvy světla a vzorku. Změna teploty vzorku tady měla minimální vliv.



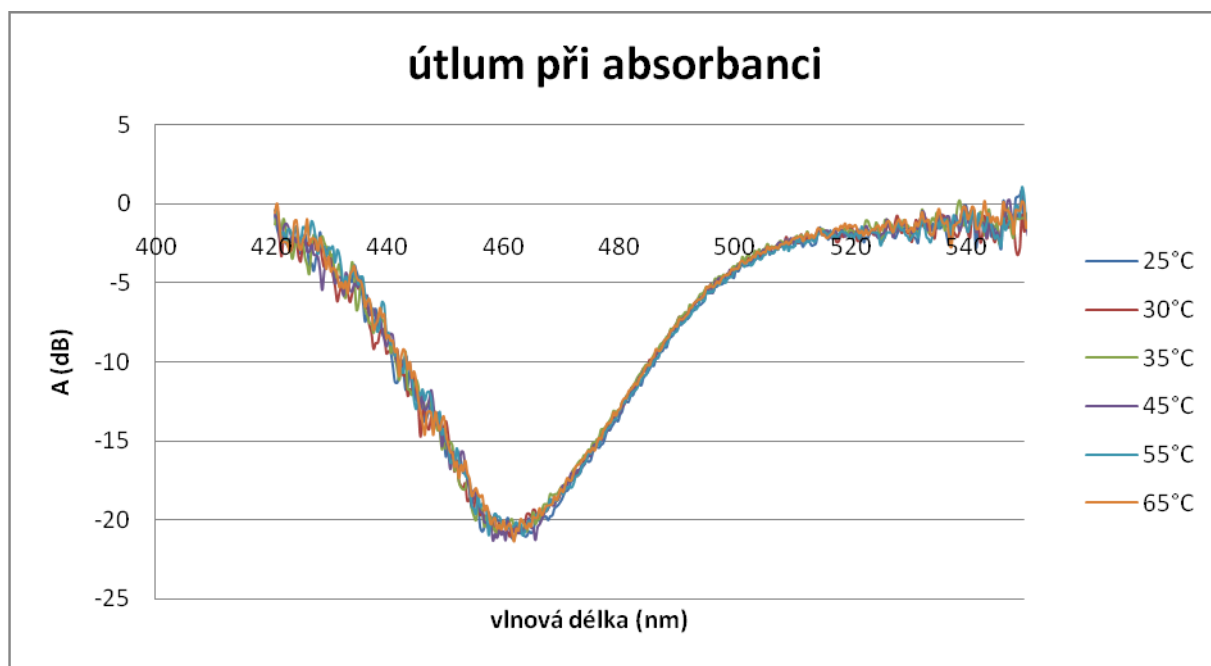
Obrázek 6.6 Graf absorpance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.

Výsledky zapsané ve formě útlumu (dB) tabulka 6.5:

$\lambda(\text{nm})$	25°C	30°C	35°C	45°C	55°C	65°C
420,57	-0,76391	-0,40287	-1,29718	-0,68372	-0,37464	-0,57055
430,94	-4,96798	-5,15983	-4,77606	-5,03158	-3,70105	-4,15803
440,9	-10,1841	-9,34443	-9,04902	-8,2899	-8,69416	-8,66848
450,85	-15,8155	-15,8364	-15,0622	-16,7567	-16,3692	-15,7507
460,76	-19,8572	-20,6971	-20,3796	-20,0551	-20,5222	-20,4334
470,66	-18,2079	-17,8936	-17,6845	-17,9511	-17,9133	-17,8516
480,16	-13,3133	-12,9349	-12,988	-13,2094	-13,0198	-12,9692
490,72	-7,64633	-7,35754	-7,12829	-7,48707	-7,56845	-7,33688
500,54	-4,26343	-3,83311	-3,78311	-3,92025	-4,02185	-4,1164
510,68	-2,38687	-2,38951	-2,03058	-2,29406	-2,28648	-2,1511
520,08	-1,90688	-1,33864	-1,65007	-1,82356	-1,90446	-1,43436
530,17	-1,73709	-1,86964	-1,60536	-1,58194	-2,31364	-1,6477

Tabulka 6.5 útlum absorpance v dB při určitých teplotách.

Následující graf (obr. 6.7) popisuje absorbanci ve formě útlumu. Vysoký útlum je zde způsoben rozdílností barev světla a barvou vzorku. Rozdílnost teploty vzorku zde měla téměř nepatrný vliv.



Obrázek 6.7 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 470 nm procházející žlutým vzorkem.

7 Měření fluorescence:

Toto měření pojednává o fluorescenci světla. Ze zdroje bylo vedeno světlo přes optické vlákno do kyvety, která obsahovala vzorek kapaliny s fluoresceinem. Při dodání světelné energie vzorku začal vzorek okamžitě vyzařovat světelnou energii do prostoru na jiné vlnové délce. Fluorescence se v závislosti na teplotě měnila v intenzitě vyzařené světelné energie.

Popis měřicí soustavy pro měření fluorescence:

Zdroj světla: vytváří světelný výkon za pomoci LED diod. Tento zdroj obsahuje několik LED diod, z nichž každá vyzařuje světelný výkon na různé vlnové délce. Můžeme si upravit světelný výkon, který zdroj vydává pomocí potenciometru.

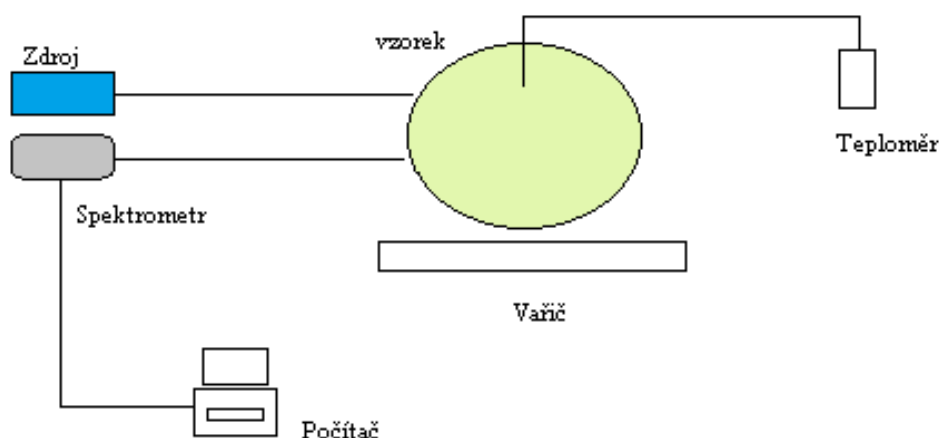
Optické vlákno: slouží pro přenos světelného výkonu do kyvety a z kyvety do zdroje.

Spektrometr: zpracovává světelný výkon, jenž vychází z kyvety do spektrometru a promítá nám jeho vyhodnocení do počítače.

Teploměr: za pomoci teploměru hlídáme teplotu vzorku

Varič: slouží pro zahřátí kádinky se vzorkem.

7.1 Schéma zapojení



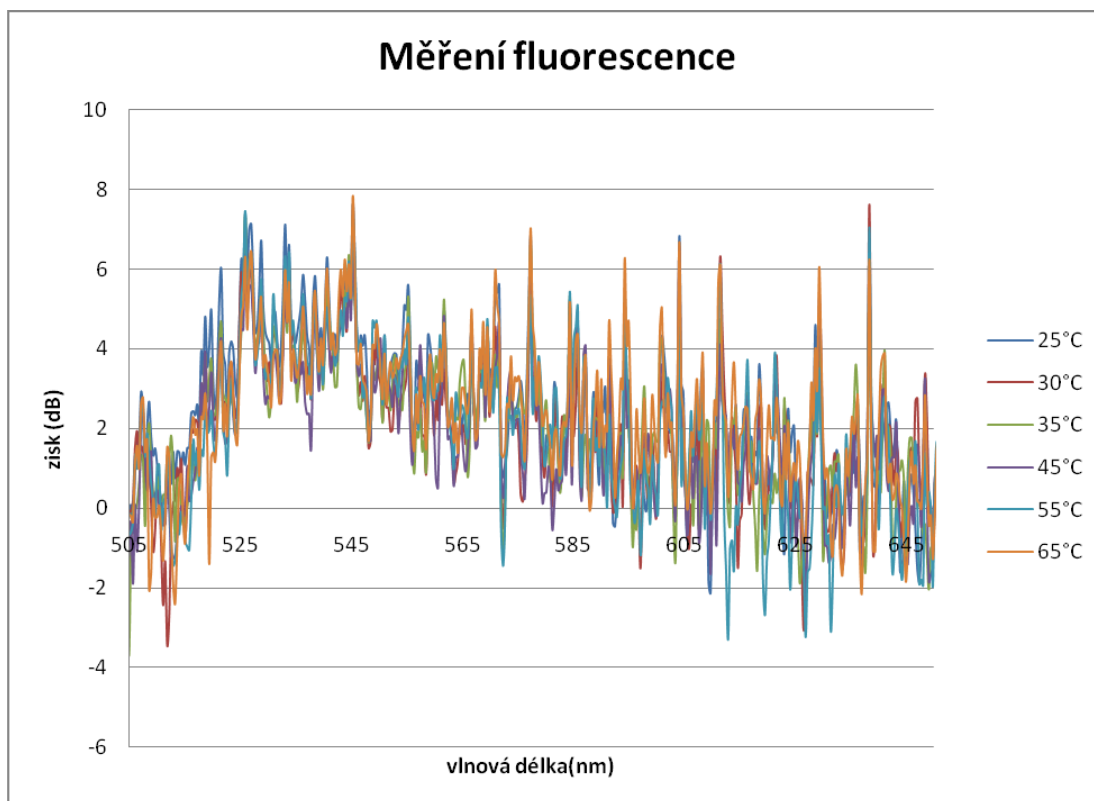
Obrázek 7.0 Blokové schéma zapojení fluorescence

Výsledky zapsané ve formě energetických hodnot (au) tabulka 7.0:

$\lambda(\text{nm})$	25°C	35°C	45°C	55°C	65°C	Ref
500,17	17,67714	15,82758	17,64172	14,5841	13,00462	12,75668
510,32	74,64914	57,19558	42,40772	31,4881	27,80862	13,33048
520,08	256,5768	236,301	184,1885	145,7604	117,0267	9,650288
530,17	301,0448	273,565	251,7625	240,3764	217,4047	10,42409
540,59	230,6834	211,1684	208,3409	200,0173	196,0462	11,58282
550,62	191,8314	187,3324	171,1009	173,1773	166,7962	11,58282
560,26	154,4448	147,489	130,1085	131,4884	125,2707	11,23719
570,23	118,7608	112,353	105,3745	103,4884	101,9103	12,47658
580,16	83,11075	77,18758	72,47848	76,28182	72,05903	12,63713
590,78	59,00275	55,29958	53,75848	52,48982	49,34303	11,27658
600,29	49,74514	46,95158	40,66372	40,9841	38,98862	12,96978
610,49	35,89075	34,23158	31,99648	30,10582	29,33903	7,302843
620,29	27,71075	26,00358	24,92248	22,64982	24,44903	11,23719
630,06	23,32675	23,80358	20,77848	18,61782	21,89303	8,102843

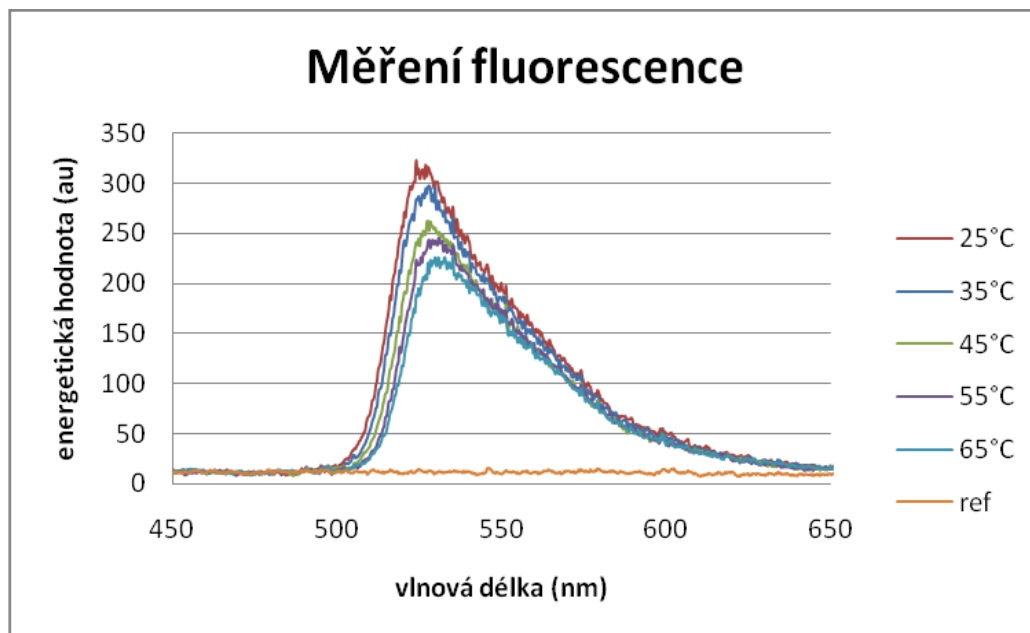
Tabulka 7.0 energetické hodnoty fluorescence při určitých teplotách.

Při měření fluorescence způsobem , který vytvořila firma Safibra nebylo možné použít, protože výsledné hodnoty byly velice zašuměné a energetický zisk byl tak malý, že nešlo tyto hodnoty důvěryhodně vyhodnotit. Na obr. 7.1 můžeme vidět výsledný graf. Tento graf byl vložen pro porovnání s mnou vytvořenou metodou.



Obrázek 7.1 Graf absorpance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 470 nm procházející žlutým vzorkem.

Na grafu (obr 7.2) vidíme, že fluorescence světla o vlnové délce 400 nm, které prochází vzorkem při teplotě 25°C bylo vyzářeno na vlnové délce 525 nm a jeho energetická hodnota činila 315 au. Když byla zvýšena teplota na 35°C, intenzita fluorescence se snížila o 6,3% a vlnová délka vyzářeného světla vzrostla na 530 nm. Při dalším zvýšení teploty na 45°C poklesla intenzita světla o 11,5 % a vlnová délka světla byla 528 nm. Když vzorek dosáhl teploty 55°C intenzita světla poklesla o 7,7 % a vyzářené světlo mělo vlnovou délku 531 nm. Vzorek o teplotě 65°C vykazoval pokles intenzity světla o dalších 8,8% a vlnová délka světla byla 532 nm.



Obrázek 7.2 Měření fluorescence v závislosti na teplotě.

Hodnoty zapsány ve formě energetického zisku(dB) do tabulky:

$\lambda(\text{nm})$	25°C	35°C	45°C	55°C	65°C
500,17	1,834807	1,014169	1,246916	0,834989	0,276382
510,32	7,979407	6,757358	5,263371	3,966647	3,406513
520,08	13,92974	13,44467	12,42481	11,42225	10,58915
530,17	14,01628	13,59382	13,19207	13,00185	12,68285
540,59	12,99202	12,60814	12,5496	12,37253	12,28544
550,62	12,19105	12,08798	11,69438	11,74676	11,58372
560,26	11,38116	11,18102	10,63648	10,6823	10,47192
570,23	9,715827	9,532488	9,149604	9,123689	9,064117
580,16	8,535053	8,299671	7,913547	8,142124	7,925339
590,78	6,853921	6,59365	6,607283	6,717551	6,269399
600,29	5,838179	5,587175	4,962743	4,996826	4,780051
610,49	6,526376	6,418307	6,10535	5,799298	5,593111
620,29	4,17564	3,894574	3,464424	3,444883	3,66739
630,06	3,711821	3,675209	2,971113	3,399274	3,434055

Tabulka 7.1 energetické zisk fluorescence v dB při určitých teplotách.

Závěr:

V první části práce byly popsány základní věci související s tímto měřením. Druhá část bakalářské práce je věnována experimentálnímu měření, které ukázalo, že absorbance je závislá na teplotě, barvě světla a vzorku. S měnicí se teplotou se mění i velikost absorbance kapalných vzorků. Experimentální měření ukázala, že nezávisí pouze na teplotě, ale i na použité vlnové délce světla a barvě vzorku a jejich rozdílnosti. Pokud se barva vzorku liší od barvy světla, pak je absorbance výrazně vyšší. Měření fluorescence ukázalo, že její závislost na teplotě je výraznější než u absorbance. Jelikož se nemění pouze intenzita světla, ale taky její vlnová délka v řádech nanometrů. Byly vytvořeny dvě laboratorní úlohy pro studenty, které budou sloužit jako výukový studijní podklad do předmětu NAOV.

Použité zdroje a literatura

- [1] FILKA, Miroslav. *Optoelektronika pro telekomunikace a informatiku* . 2009. [s.l.] : [s.n.], 2009. 369 s.
- [2] KROHN, David. *Optické vláknové senzory : Základy a použití*. [s.l.] : [s.n.], 1992. 270 s.
- [3] CSELE, Mark. *Fundamentals of Light Sources and Lasers*, Wiley [s.l.] : [s.n.], 2004 349
- [4] MALINA, Václav. *Poznáváme elektroniku - 2. díl*; [s.l.] : [s.n.], 2008 192 s.
- [5] *Luminiscence* [online]. 2010 [cit. 2011-05-05]. Luminiscence. Dostupné z WWW: <http://fch.upol.cz/skripta/zfcm_pred/3_luminiscence_2010.pdf>.

Seznam obrázků

Obr. 1.0: Vlnové délky využívané pro přenos po optickém vlákně [1]	8
Obr. 1.1 Přehled přenosových oken [1].....	10
Obrázek 5.0 fluorescence chininu obsaženém v toniku[5].....	20
Obrázek 6.0 Fotografie zapojení pro měření absorbance	22
Obrázek 6.1 Fotografie měření teploty vzorku	23
Obrázek 6.2 Graf absorbance světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.	25
Obrázek 6.3 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.	27
Obrázek 6.4 Graf absorbance světla při vlnové délce 470 nm procházející modrým vzorkem. ...	29
Obrázek 6.5 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 470 nm procházející modrým vzorkem.	30
Obrázek 6.6 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 580 nm procházející žlutým vzorkem.	32
Obrázek 6.7 Graf absorbance v útlumovém tvaru světla při vlnové délce 470 nm procházející žlutým vzorkem.	33
Obrázek 7.0 Blokové schéma zapojení fluorescence	34
Obrázek 7.2 Měření fluorescence v závislosti na teplotě.	37

Seznam tabulek

Tabulka 6.0 energetické hodnoty při určitých teplotách.	24
Tabulka 6.1 útlum absorbance v dB při určitých teplotách.	26
Tabulka 6.2 energetické hodnoty při určitých teplotách.	28
Tabulka 6.3 útlum absorbance v dB při určitých teplotách.	29
Tabulka 6.4 energetické hodnoty při určitých teplotách.	31
Tabulka 6.5 útlum absorbance v dB při určitých teplotách.	32
Tabulka 7.0 energetické hodnoty fluorescence při určitých teplotách.	35
Tabulka 7.1 energetické zisk fluorescence v dB při určitých teplotách.	37

Seznam Příloh

- Příloha č. 1: Měření absorbance kapalných vzorků v závislosti na teplotě
- Příloha č. 2: Měření fluorescence kapalných vzorků v závislosti na teplotě
- Příloha č. 3: Tabulky hodnot pro měření absorbance
- Příloha č. 4: Tabulky hodnot pro měření fluorescence